

ICS 67.050

CCS X 04

团 体 标 准

T/SCPP XXXX—2025

茶叶和花椒中草铵膦、草甘膦及其代谢物残留量 的非衍生化测定 分散固相萃取结合液相色谱 —串联质谱法

Non-derivatization determination of residues of glufosinate, glyphosate and their
metabolites in tea and Huajiao pepper - Dispersive solid-phase extraction coupled
with liquid chromatography tandem mass spectrometry

（征求意见稿）

2025 – XX – XX 发布

2025 – XX – XX 实施

四川省品牌建设促进会 发 布

目 次

前 言 II

1 范围 1

2 规范性引用文件 1

3 术语和定义 1

4 原理 1

5 试剂和材料 1

 5.1 试剂 1

 5.2 溶液配制 1

 5.3 标准品 2

 5.4 标准溶液配制 2

 5.5 材料 2

6 仪器 2

7 试样制备 2

 7.1 试样制备 2

 7.2 试样贮存 2

8 分析步骤 3

 8.1 前处理 3

 8.2 测定 3

 8.3 绘制标准工作曲线 4

 8.4 定性及定量 4

 8.5 试样溶液的测定 4

 8.6 平行试验 4

 8.7 空白试验 5

9 结果计算 5

10 精密度 5

11 其他 5

附 录 A （资料性） 草铵膦、草甘膦及其代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限 6

附 录 B （资料性） 草铵膦、草甘膦及其代谢物的保留时间和动态多反应监测（dMRM）条件... 7

附 录 C （资料性） 精密度的表示和计算 8

前 言

本文件按照GB/T 1.1—2020《标准化工作导则 第1部分：标准化文件的结构和起草规则》的规定起草。

请注意本文件的某些内容可能涉及专利。本文件的发布机构不承担识别专利的责任。

本文件由雅安市农产品质量监测检验中心提出。

本文件由四川省品牌建设促进会归口。

本文件起草单位：雅安市农产品质量监测检验中心、XXX、……。

本文件主要起草人：XXX、……。

茶叶和花椒中草铵膦、草甘膦及其代谢物残留量的非衍生化测定 分散固相萃取结合液相色谱—串联质谱法

1 范围

本文件规定了茶叶和花椒中草铵膦及其代谢物(N-乙酰草铵膦(NAG)、3-甲基磷酸亚基丙酸(MPPA))、草甘膦及其代谢物(氨基磷酸(AMPA))残留量检测的制样和分散固相萃取结合液相色谱—串联质谱的非衍生测定方法。

本文件适用于茶叶和花椒中草铵膦、草甘膦及其代谢物残留量的测定。

2 规范性引用文件

下列文件中的内容通过文中的规范性引用而构成本文件必不可少的条款。其中,注日期的引用文件,仅该日期对应的版本适用于本文件;不注日期的引用文件,其最新版本(包括所有的修改单)适用于本文件。

GB 2763-2021 食品安全国家标准 食品中农药最大残留限量

GB/ T 6682 分析实验室用水规格和试验方法

3 术语和定义

本文件没有需要界定的术语和定义。

4 原理

试样中的草铵膦、草甘膦及其代谢物用 10 mL 水+10 mL 1%甲酸-甲醇提取,经过滤和离心后,上清液通过复合型多壁碳纳米管(C-MWCNTs)分散固相萃取净化,净化液经阴离子极性色谱柱分离后用液相色谱-质谱联用法的负离子模式检测,外标法定量分析。

5 试剂和材料

5.1 试剂

5.1.1 除非另有说明,在分析中仅使用分析纯的试剂,水为 GB/ T 6682 规定的一级水。

5.1.2 甲醇(CH₃OH, CAS 号: 67-56-1), 色谱纯。

5.1.3 甲酸(HCOOH, CAS 号: 64-18-6), 色谱纯。

5.1.4 乙腈(CH₃CN, CAS 号: 75-05-8), 色谱纯。

5.2 溶液配制

5.2.1 1%甲酸-甲醇。

5.2.2 0.7%甲酸-乙腈。

5.2.3 0.7%甲酸-水。

5.3 标准品

草铵膦及其代谢物 N-乙酰草铵膦 (NAG)、3-甲基磷酸亚基丙酸 (MPPA)，草甘膦及其代谢物氨甲基膦酸 (AMPA) 的标准品，具体信息参见附录 A，纯度 $\geq 98\%$ 。

5.4 标准溶液配制

5.4.1 标准储备溶液 (1 mg/mL)

准确称取 10 mg (精确至 0.1 mg) 各标准品于 10 mL 棕色容量瓶中，分别用甲醇溶解并定容至刻度，各自转移至棕色储液瓶中，配制成 1 mg/mL 的单一标准品储备溶液，于 -18°C 及以下温度条件储存。

5.4.2 中间溶液

5.4.2.1 用 V (甲醇) : V (水) = 1 : 1 稀释标准储备溶液，配制成 10 $\mu\text{g/mL}$ 的中间混合溶液，用于添加回收试验。

5.4.2.2 用 V (甲醇) : V (水) = 1 : 1 稀释中间混合溶液，配制成 0.1 $\mu\text{g/mL}$ 或 0.2 $\mu\text{g/mL}$ 的混合标准溶液，用于优化仪器条件。

5.5 材料

5.5.1 棕色容量瓶：10 mL，聚乙烯或聚丙烯材质。

5.5.2 棕色储液瓶：聚乙烯或聚丙烯材质。

5.5.3 具塞离心管：50 mL，聚乙烯或聚丙烯材质。

5.5.4 QuEChERS 专用净化管：5 mg 复合型多壁碳纳米管 (C-MWCNTs) 为核心净化材料。

5.5.5 微孔滤头 (水相)：0.22 μm \times 13 mm，PTFE (聚四氟乙烯) 材质，或相当者。

5.5.6 进样瓶：2 mL，聚乙烯或聚丙烯材质。

6 仪器

6.1.1 液相色谱-质谱联用仪：配有电喷雾离子源 (ESI)。

6.1.2 分析天平：感量 0.0001g、感量 0.01g。

6.1.3 高速研磨仪。

6.1.4 高速分散匀浆机。

6.1.5 高速离心机：转速不低于 6000 r/min。

6.1.6 漩涡混合器。

6.1.7 振荡器：转速不低于 200 r/min。

6.1.8 超纯水机。

7 试样制备

7.1 试样制备

7.1.1 样品测定部位按 GB 2763-2021 中附录 A 的规定执行，取样量按相关标准或规定执行。

7.1.2 干花椒果皮或干茶叶除去杂物，分别放入高速研磨仪、高速分散匀浆机中粉碎后充分混匀，放入聚乙烯瓶或袋中。

7.2 试样贮存

将试样按测试和备用分别存放，于-18℃及以下温度条件保存。

8 分析步骤

8.1 前处理

8.1.1 提取

称取 2.00 g（精确至 0.01 g）制备好的茶叶粉或花椒粉试样于 50 mL 具塞离心管中，加入 10 mL 水，涡旋混匀 10 s；加入 10 mL 1%甲酸-甲醇溶液，涡旋混匀 10 s；静置 30 min 后，200 r/min 振荡提取 10 min，6000 r/min 离心 5 min，待净化。

8.1.2 净化

定量吸取 1.5 mL 上清液，转移至 QuEChERS 专用净化管中，涡旋混匀 10 s，6000 r/min 离心 5 min；取上清液过 0.22 μm×13 mm 微孔滤头，滤液收集于 2 mL 进样瓶中，待测定。

8.1.3 配制基质匹配标准工作溶液

选择与被测样品性质相同或相似的空白样品按本文件 8.1、8.2 的规定进行提取、净化，得到空白基质溶液。向空白茶叶或花椒基质溶液中添加中间混合溶液，配制成 0.01 μg/mL、0.05 μg/mL、0.10 μg/mL、0.20 μg/mL、0.50 μg/mL、1.0 μg/mL、2.0 μg/mL 的基质匹配标准工作溶液。

8.2 测定

8.2.1 液相色谱参考条件

8.2.1.1 色谱柱：阴离子极性农药分析色谱柱，100 mm × 2.1 mm（内径），5 μm（粒径），或相当者。

8.2.1.2 流动相：A 相为 0.7%甲酸-乙腈、B 相为 0.7%甲酸-水，流动相梯度洗脱程序见表 1。

8.2.1.3 流速：0.4 mL/min。

8.2.1.4 柱温：40 ℃。

8.2.1.5 进样体积：10 μL。

表1 流动相及梯度洗脱程序（V_A + V_B）

时间, min	流动相 V _A	流动相 V _B
0.0~0.8	90	10
>0.8~3.5	90~15	10~85
>3.5~9.0	15	85
>9.0~9.5	15~90	85~10
>9.5~13	90	10

8.2.2 质谱参考条件

8.2.2.1 离子源：电喷雾离子源（ESI）。

8.2.2.2 扫描方式：负离子扫描。

8.2.2.3 干燥气温度：325 ℃。

8.2.2.4 毛细管干燥气流量：7 L/min。

8.2.2.5 雾化器压力：241.3 kPa。

8.2.2.6 鞘气温度：300 ℃。

8.2.2.7 鞘气流量：12 L/min。

8.2.2.8 动态多反应监测（dMRM）：在负离子扫描方式下，用单一标准溶液（1 mg/L）对母离子进行全扫描，同时设置不同的裂解电压，找到母离子，选择母离子响应最大值下的裂解电压，作为最优裂解电压。然后，进行产物离子扫描，并同时优化碰撞电压，找到特征子离子及其最佳碰撞电压，保证每个参数均至少有两个特征离子对。最后，采用优化的条件进行动态多反应监测（dMRM）分析。5 种化合物的保留时间和动态多反应监测（dMRM）条件，参见附录 B。

8.3 绘制标准工作曲线

根据仪器性能和检测需要选择不少于 5 个浓度点供液相色谱-质谱联用仪测定。以 5 种化合物定量用子离子的质量色谱图峰面积为纵坐标，相对应的基质匹配标准工作溶液质量浓度为横坐标，绘制标准工作曲线，求回归方程和相关系数。基质匹配标准溶液应现配现用。

8.4 定性及定量

8.4.1 保留时间

被测试样中目标化合物色谱峰的保留时间与相应标准色谱峰的保留时间相比较，相对误差应在±2.5%之内。

8.4.2 定量离子、定性离子及子离子丰度比

在相同实验条件下进行样品测定时，如果检出的色谱峰的保留时间与标准样品相一致，并且在扣除背景后的样品质谱图中，目标化合物选择的质谱定性离子均出现，至少应包括 1 个母离子和 2 个子离子，而且同一检测批次，对同一化合物，样品中目标化合物的 2 个子离子的相对丰度比与质量浓度相当的标准溶液相比，其相对偏差不超过表 2 规定的范围，则可判断样品中存在目标化合物。

表2 定性测定时相对离子丰度比的最大允许偏差

单位为百分率

相对离子丰度	>50	>20 至 50（含）	>10 至 20（含）	≤10
允许相对偏差	±20	±25	±30	±50

本方法的标准物质动态多反应监测（dMRM）质量色谱图。

8.4.3 定量

外标法定量。

8.5 试样溶液的测定

将基质匹配标准工作溶液和试样溶液依次注入液相色谱-质谱联用仪中，以保留时间和离子丰度比定性，测得定量用子离子的质量色谱图峰面积，待测样液中农药的响应值应在仪器检测的定量测定线性范围内，超过线性范围时应根据测定浓度进行适当倍数稀释后再进行分析。

8.6 平行试验

按以上步骤对同一试样进行平行试验测定。

8.7 空白试验

除不加试样外，采用完全相同的测定步骤进行平行操作。

9 结果计算

试样中各化合物的残留量以质量分数 ω 计，单位以毫克每千克 (mg/kg) 表示，按公式 (1) 或公式 (2) 计算。

$$\omega = \frac{A \times \rho_1 \times v}{A_s \times m} \dots\dots\dots (1)$$

$$\omega = \frac{\rho_2 \times v}{m} \dots\dots\dots (2)$$

式中：

ω ——试样中被测物残留量，单位为毫克每千克 (mg/kg)；

A ——试样溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

A_s ——标准工作溶液中被测物的质量色谱图峰面积；

ρ_1 ——基质匹配标准工作溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

ρ_2 ——从基质匹配标准工作曲线中得到的试样溶液中被测物的质量浓度，单位为毫克每升 (mg/L)；

v ——提取溶液总体积，单位为毫升 (mL)；

m ——试样的质量，单位为克 (g)；

计算结果以重复性条件下获得的 2 次独立测定结果的算术平均值表示，保留 2 位有效数字。当结果大于 1 mg/kg 时，保留 3 位有效数字。

10 精密度

10.1.1 在重复性条件下，2 次独立测定结果的绝对差值不大于重复性限 (r)，参见附录 C 中表 C.1 和表 C.2。

10.1.2 在再现性条件下，2 次独立测定结果的绝对差值不大于再现性限 (R)，参见附录 C 中表 C.3 和表 C.4。

11 其他

本文件方法对茶叶和花椒中 5 种化合物的定量限，参见附录 A。

附 录 A
(资料性)

草铵膦、草甘膦及其代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限

草铵膦、草甘膦及其代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限，见表A. 1。

表A. 1 草铵膦、草甘膦及其代谢物中英文名称、分子式、CAS 号和定量限

序号	中文名	英文名	分子式	CAS 号	定量限，mg/kg	
					茶叶	花椒
1	草铵膦	Glufosinate-ammol/Lonium	C ₅ H ₁₈ N ₃ O ₄ P	77182-82-2	0.10	0.16
2	N-乙酰草铵膦	N-acetyl glyphosate (NAG)	C ₇ H ₁₄ NO ₅ P	73634-73-8	0.03	0.02
3	3-甲基磷酸亚基丙酸	3-methyl phosphinicopropionic acid (MPPA)	C ₄ H ₉ O ₄ P	15090-23-0	0.05	0.03
4	草甘膦	Glyphosate	C ₃ H ₈ NO ₅ P	1071-83-6	0.07	0.06
5	氨甲基膦酸	Aminomethyl phosphonic acid (AMPA)	CH ₆ NO ₃ P	1066-51-9	0.09	0.11

附 录 B
(资料性)

草铵膦、草甘膦及其代谢物的保留时间和动态多反应监测（dMRM）条件

草铵膦、草甘膦及其代谢物的保留时间和动态多反应监测（dMRM）条件，见表B.1。

表 B.1 草铵膦、草甘膦及其代谢物的保留时间和动态多反应监测（dMRM）条件

序号	中文名	扫描电压, V	保留时间, min	母离子	子离子	碰撞能量, V
1	草铵膦	110	4.92	180	136/85/63	20/20/40
2	N-乙酰草铵膦	75	7.99	222	180/59/136	15/25/15
3	3-甲基磷酸亚基丙酸	70	6.08	151	107/63/133	10/15/40
4	草甘膦	70	8.68	168	124/63/150	10/15/25
5	氨甲基磷酸	90	3.84	110	81/79/63	10/30/20

附 录 C
(资料性)
精密度的表示和计算

C.1 茶叶重复性限 (r) 要求见表C.1，花椒重复性限 (r) 要求见表C.2。

表 C.1 茶叶重复性限 (r)

序号	中文名	重复性限 (r)		
		0.25 mg/kg	0.50 mg/kg	1.0 mg/kg
1	草铵膦			
2	N-乙酰草铵膦			
3	3-甲基磷酸亚基丙酸			
4	草甘膦			
5	氨基甲酸酯			

表 C.2 花椒重复性限 (r)

序号	中文名	重复性限 (r)		
		0.25 mg/kg	0.50 mg/kg	1.0 mg/kg
1	草铵膦			
2	N-乙酰草铵膦			
3	3-甲基磷酸亚基丙酸			
4	草甘膦			
5	氨基甲酸酯			

C.2 茶叶再现性限 (R) 要求见表C.3，花椒再现性限 (R) 要求见表C.4。

表 C.3 茶叶再现性限 (R)

序号	中文名	再现性限 (R)		
		0.25 mg/kg	0.50 mg/kg	1.0 mg/kg
1	草铵膦			
2	N-乙酰草铵膦			
3	3-甲基磷酸亚基丙酸			
4	草甘膦			
5	氨基甲酸酯			

表 C.4 花椒再现性限 (R)

序号	中文名	再现性限 (R)		
		0.25 mg/kg	0.50 mg/kg	1.0 mg/kg
1	草铵膦			
2	N-乙酰草铵膦			

3	3-甲基磷酸亚基丙酸			
4	草甘膦			
5	氨甲基膦酸			

说明：团体标准目前处于征求意见阶段，重复性限（r）和再现性限（R）为资料性支撑，有需要查阅的，请联系四川省品牌建设促进会征求意见通知上的联系人索取。
